

BULLETIN MENSUEL

DE LA

SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYON

FONDÉE EN 1822

RECONNUE D'UTILITE PUBLIQUE PAR DECRET DU 9 AOUT 1937

des SOCIÉTÉS BOTANIQUE DE LYON. D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON
REUNIES

et de leurs GROUPES REGIONAUX : ROANNE, VALENCE, etc

Siège Social et Secrétariat Général : 33, rue Bossuet, Lyon (6^{me})Trésorier : M. H. BONVALLET, 20, rue Molière, Lyon (6^e).

ABONNEMENT ANNUEL :	France et Union	10 F	— C.C.P. Lyon 101-98
	Etranger	11 F	
	Scolaires	5 F	

PARTIE SCIENTIFIQUE

METHODE RAPIDE POUR L'ETUDE DE LA FERMENTATION DES SUCRES PAR LES LEVURES

par J. DESPEIGNES et M.-R. BATESTI.

L'action des levures sur les sucres constitue un élément important pour la détermination de ces champignons.

En Mycologie médicale plusieurs méthodes ont été proposées successivement pour étudier la fermentation des sucres par les levures. La technique la plus ancienne, celle de LANGERON et GUERRA, utilise une eau peptonée, glucosée à 2 p. 100 sous un tampon de paraffine ; c'est une méthode précise et quantitative, la totalité du CO² produit restant emprisonnée sous le bouchon de paraffine ; mais les difficultés techniques : ensemencement de la levure et lavage des tubes ainsi que la lenteur des processus de fermentation la rendent peu utilisable en pratique courante.

Les tubes à étranglement d'Yvan HALL, avec bille faisant clapet, ont l'avantage d'être de manipulation plus simple. Cependant cette méthode est lente et peu précise : la bille de verre laisse échapper la plus grande partie du gaz dégagé et il est difficile d'apprécier quantitativement le dégagement gazeux.

Actuellement on utilise de plus en plus la technique en gélose molle proposée par MARCELOU-KINTI et VOURNOUS : en milieu faiblement gélosé à 6 p. 1 000, la fermentation se traduit par la formation de bulles de gaz à l'intérieur de la gélose.

Cette méthode a été adoptée par l'Institut Pasteur de Paris ; elle a sur les techniques précédentes l'avantage de permettre une lecture rapide en 48 heures tout en restant de manipulation facile.

Pour l'identification rapide des levures au laboratoire nous avons modifié cette méthode dans le double but d'obtenir une fermentation plus intense, lisible en 24 heures, et de simplifier les manipulations.

Les levures poussant mieux à ph acide qu'à ph trop alcalin, nous employons une eau peptonée dont le ph est voisin de 6,5.

Nous avons choisi comme indicateur le Bromocrésol pourpre, c'est un indicateur qui vire à un ph bas (de 5,5 à 7) et dont le virage est franc et facile à apprécier.

La concentration optimum en gélose du milieu est de 8 à 10 pour 1 000 ; une concentration en gélose supérieure à 12 p. 1 000 inhibe le dégagement gazeux dans le milieu ; au contraire, si la gélose est trop molle et si sa concentration est inférieure à 4 ou 5 p. 1 000, les bulles de gaz tendent à monter à la surface et à se dégager au fur et à mesure de leur formation.

La concentration en sucre est importante à préciser, l'intensité de la fermentation lui est proportionnelle.

C'est en employant un milieu contenant de 15 à 30 p. 1 000 de sucre que le dégagement gazeux est le plus rapide et le plus abondant. Les

sucres peuvent être ajoutés au milieu avant la stérilisation mais une température trop élevée risque d'altérer lactose et surtout raffinose, aussi la tyndallisation est-elle préférable.

On peut encore ajouter le sucre avant l'ensemencement sous forme de quelques gouttes d'une solution concentrée stérile.

Mais ces méthodes, dans le premier cas, obligent à préparer de nombreuses séries de tubes de milieux différents et dans le deuxième cas les solutions concentrées de sucre posent des problèmes de conservation, une fois mises en utilisation.

Pour simplifier les manipulations nous utilisons un seul milieu gélosé et des disques de papier buvard imprégnés des diverses solutions sucrées ; les disques peuvent être préparés à l'avance et stockés après dessiccation.

Nous avons constaté enfin que la fermentation était plus rapide et plus intense à 37° C qu'à 27° C.

TECHNIQUE.

— *Le milieu :*

Gélose en branches : 9 grammes ;
Peptone de Chapoteaut : 10 grammes,
Bromocrésol pourpre : 0,04 gramme,
Eau du robinet : 1 000 ml,
Chloramphénicol : 0,5 gramme.

On fait tremper la veille la gélose dans 900 ml d'eau.

On liquéfie à chaud le mélange gélose, peptone, eau ; on ajoute le bromocrésol dissous dans 100 ml d'eau ainsi que la chloromycétine ; la couleur du milieu varie du pourpre au violet.

Le milieu est réparti en tubes vissés à raison de 14 ml par tube environ (quantité suffisante pour un essai) puis stérilisé à 115° C pendant 20 minutes.

— *Les disques imprégnés de sucres :*

Des disques de papier filtre épais et numérotés sont imprégnés de trois gouttes d'une solution de sucre à 30 p. 100.

Les disques sont séchés à l'étuve et stockés en tubes bouchés.

L'adjonction de chloromycétine au milieu permet d'éviter la stérilisation des disques contenant les sucres.

— *L'ensemencement :*

L'inoculum doit être riche, la production de gaz lui est proportionnelle. La levure à identifier a été ensemencée largement sur un tube de Sabouraud à la chloromycétine ; il est préférable d'utiliser un repiquage récent de 48 heures.

On répartit les disques imprégnés des divers sucres à tester dans des tubes à hémolyse bouchés au coton.

On imbibe chaque disque de 4 à 5 gouttes d'une émulsion de levure obtenue en reprenant par 2 ml de sérum physiologique la totalité de la culture sur milieu de Sabouraud.

Pendant ces manipulations un tube de milieu est liquéfié au bain-marie bouillant ; on le laisse refroidir et quand sa température atteint

40 à 45° C on répartit environ 2 ml de milieu dans chaque tube à hémolyse contenant émulsion de levure et sucre.

La lecture s'effectue après 24 heures d'étuve à 37° C.

On note l'acidification avec virage de l'indicateur au jaune vif et surtout la production de gaz qui seule a une valeur systématique absolue.

Suivant l'intensité de la fermentation on observe soit une petite bulle de gaz formée au contact du buvard, soit de nombreuses bulles qui fragmentent la gélose, soit un dégagement gazeux abondant qui soulève en bloc le milieu et parfois même le bouchon de coton.

En conclusion cette méthode nous paraît présenter plusieurs avantages :

— La rapidité de la lecture et la simplicité des manipulations en font une technique qui peut être employée en routine dans tout laboratoire pour l'identification des levures.

— C'est aussi une méthode sensible qui permet de détecter une fermentation aussi faible que celle du galactose par le *Candida albicans*.

— Cette méthode est enfin assez quantitative pour apprécier l'intensité du dégagement gazeux.

(Travail effectué au laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Lyon Pr. Coudert).

Présenté à la Section Mycologique en sa séance du 25 octobre 1965.

ETUDE PALEOXYOLOGIQUE DE LA VALLEE DU RHONE (1) : PRESENCE DE TRONCS DE POPULUS ALBA L. DANS LA BASSE-TERRASSE DU RHONE A VAULX-EN-VELIN (RHONE)

par Y. LEMOIGNE.

Gisement :

Vaulx-en-Velin, au lieudit « l'Epi », dans la gravière exploitée par M. MARTIN, dans la base des alluvions modernes de l'ancienne vallée du Rhône (niveau de la plus basse terrasse), à dix mètres en-dessous de la surface du sol actuel (à cet endroit la couche d'alluvions modernes est d'une quinzaine de mètres environ), nous avons trouvé, mélangés aux très gros galets et blocs, plusieurs troncs d'arbres couchés dont certains atteignaient 7 mètres de longueur avec un diamètre supérieur à 40 cm.

Identification des bois :

L'identification de ces bois a pu être réalisée à partir de fragments traités par une solution de potasse (pour ramollissement du matériel) et coupés au microtome. Les observations suivantes ont pu être faites :

1) *Plan transversal* : éléments sériés radialement et zonation concentrique (cernes) ; plusieurs catégories d'éléments :

— rayons parenchymateux unisériés et homogènes (de 15 μ à 30 μ) ; occupant les trois quarts de la surface du plan de coupe ;

— gros éléments, dont le diamètre varie entre 87 μ et 120 μ , isolés ou par files radiales de 2 ou 3, uniformément répartis ; leur lumière est très fréquemment oblitérée par des thylles ;